

ЛІСОВЕ ТА САДОВО-ПАРКОВЕ ГОСПОДАРСТВО

Науковий вісник НЛТУ України
Scientific Bulletin of UNFU<https://nv.nltu.edu.ua><https://doi.org/10.36930/40310301>

Article received 29.03.2021 p.

Article accepted 29.04.2021 p.

UDC 630.[174.754+544]



ISSN 1994-7836 (print)

ISSN 2519-2477 (online)

@ ✉ Correspondence author

M. M. Lisoviy

m.lisoviy@nltu.edu.ua

М. М. Лісовий

Національний лісотехнічний університет України, м. Львів, Україна

**ВПЛИВ СТИМУЛЯТОРІВ РОСТУ НА РИЗОГЕНЕЗ КЛОНІВ
THUJA OCCIDENTALIS L. В УМОВАХ *IN VITRO***

Проаналізовано літературні дані стосовно досліджуваної тематики, на підставі чого встановлено необхідність удосконалення методики та поглиблення знань про перебіг процесів ризогенезу мікроклонів *Thuja occidentalis* L. в умовах *in vitro* під впливом стимуляторів росту. Для кількісної та якісної оцінки результатів досліджень проведено розподіл за показниками укорінення у балах: 0 балів – укорінення не спостерігається; 1 бал – слабе укорінення (корінці поодинокі, нерозгалужені); 2 бали – середнє укорінення, мікроживець має 2-3 добре розвинених корінці; 3 бали – сильне укорінення, коренева система добре розвинена, розгалужена, більше 3 корінців та використано інтегрований показник укорінення (ІПУ) клонів. Як живильне середовище для мікроклонування досліджуваного виду застосовано 1/2 RW, модифіковане речовинами ауксинового типу НОК та ІМК у концентраціях 0,5 та 1,0 мг/л у всіх можливих комбінаціях. З'ясовано, що найвищі показники укорінення клонів були за використання у ролі стимулятора коренеутворення тільки ІМК (1,0 мг/л), де укорінились 90,0 % мікропагонів із балом 3, та 10,0 % – із балом 2. Результати розрахунку інтегрованого показника укорінення підтвердили висунуте припущення про позитивний вплив стимулятора росту ІМК на досліджувані процеси (середній бал укорінення становив 2,90, а ІПУ – 96,67 %). Встановлено, що зниження концентрації ІМК та використання двох стимуляторів одночасно чи тільки НОК спричиняло зменшення досліджуваних показників укорінення. На підставі статистичного опрацювання отриманих даних біометричних показників адвентивних корневих систем клонів *Thuja occidentalis* (середня кількість корінців першого порядку на один експлант, середня кількість корінців другого порядку на один експлант, середня сумарна довжина корінців першого порядку на один експлант та середня сумарна довжина корінців другого порядку на один експлант), отриманих в умовах *in vitro*, встановлено, що за використання підібраної методики сформувалось $6,03^{+0,13}$ шт. корінців на експлант із середньою довжиною $116,13^{+2,05}$ мм (коефіцієнт варіації – 11,91 та 9,69 % відповідно) корінців першого порядку та $7,9^{+0,25}$ шт. – корінців другого порядку із сумарною середньою довжиною в межах $17,27^{+0,53}$ мм за варіації 17,38 та 17,0 % для відповідних біометричних показників та показника точності досліді у межах 2,18-3,17 %. Встановлено експериментально, що оптимальним живильним середовищем для ризогенезу клонів дослідженого виду є 1/2 MS із додаванням ІМК у концентрації 1,0 мг/л.

Ключові слова: *Thuja occidentalis* L.; ризогенез; живильне середовище; *in vitro*; мікроклональне розмноження.

Вступ

Досліджуваний вид, *Thuja occidentalis* L., є вічнозеленим деревом або чагарником, яке в умовах природного ареалу здатне досягати висоти до 30 м. Типова форма туї західної має вузькоконічну крону із гілками, які галузяться у горизонтальній площині [7, 11]. Але важливим є те, що досліджуваний вид характеризується значним генетичним поліморфізмом, тобто має багато морфологічних (декоративних) форм, що робить його дуже цінним для створення садово-паркових композицій як регулярного, так і пейзажного планування [8].

Відомо, що відтворення деяких цінних генотипів найкраще виконувати вегетативними способами розмноження, зокрема і мікроклонуванням, яке якісно вирізняється від інших можливістю отримання практично не обмеженої кількості оздоровлених клонів із невеликої

кількості вихідного рослинного матеріалу, зі забезпеченням відтворення генетично однорідних особин [9].

Об'єкт дослідження – адвентивний ризогенез у експлантів клонів *Thuja occidentalis* L.

Предмет дослідження – процес формування корневих систем клонів *Thuja occidentalis* L. під впливом різних стимуляторів росту.

Мета роботи – визначити оптимальний склад живильного середовища для успішного ризогенезу клонів *Thuja occidentalis* L. в умовах *in vitro*.

Для досягнення зазначеної мети визначено такі основні завдання дослідження: встановити вплив стимуляторів росту на якість ризогенезу клонів досліджуваного виду в умовах *in vitro*.

Наукова новизна отриманих результатів дослідження – вперше здійснено якісне оцінювання ризогенезу

Інформація про авторів:

Лісовий Микола Миколайович, д-р с.-г. наук, доцент, кафедра лісових культур і лісової селекції. Email: m.lisoviy@nltu.edu.ua

Цитування за ДСТУ: Лісовий М. М. Вплив стимуляторів росту на ризогенез клонів *Thuja Occidentalis* L. в умовах *in vitro*. Науковий вісник НЛТУ України. 2021, т. 31, № 3. С. 9–13.

Citation APA: Lisoviy, M. M. (2021). Influence of growth stimulators on risogenesis of *Thuja Occidentalis* L. clones *in vitro* conditions. *Scientific Bulletin of UNFU*, 31(3), 9–13. <https://doi.org/10.36930/40310301>

експлантів досліджуваного виду в умовах *in vitro* і визначено середній бал укорінення та інтегрований показник укорінення клонів.

Практична значущість результатів дослідження – отримані протоколи укорінення експлантів *Thuja occidentalis* L. в умовах *in vitro* можна застосовувати для виробництва селекційно цінного та генетично стабільного садивного матеріалу досліджуваного виду.

Аналіз останніх досліджень та публікацій. Низка вчених зазначає, що мікроклональне розмноження є одним із найефективніших методів, за допомогою якого можна отримати вегетативне потомство рослинних організмів, що дає змогу в 3–4 рази пришвидшити темпи розмноження багаторічних рослин у необхідних кількостях, зокрема рідкісних, елітних і нових сортів, які важко розмножувати у звичайних умовах [2, 5, 13].

Перші дослідження стосовно можливості мікроклонування рослин здійснили ще у 1892–1902 рр. Х. Фьохтінг, К. Рехінгер та Г. Габерландт. Вони висунули певні ідеї та гіпотези щодо розвитку і поведінки деяких рослинних клітин в умовах *in vitro*. Після цього у 1922 р. незалежно один від одного В. Робінс та Н. Котте експериментальним шляхом отримали штучну культуру рослинних тканин кореневих систем томату і кукурудзи на живильному середовищі, що можна вважати успішним початком застосування методу культури тканин. Пізніше (1932–1939 рр.), Ф. Уайт та Р. Готре довели можливість практично необмежено тривалого культивування ізолюваних рослинних тканин в умовах *in vitro*. Також значний внесок у розвиток мікроклонування здійснили Ф. Скуг та С. Міллер (1955 р.), М. Г. Холодний (1915 р.), М. О. Максимів (40-ві роки XX ст.) та ін. [10].

Оскільки під час мікроклонального розмноження рослин використовують різні хімічні речовини, які на відповідних етапах процесу можуть спричинити зміни генотипу (мутації) клонів, то питанню встановлення генетичної стабільності клонованих рослин приділяють особливу увагу. Зокрема, R. M. Nanda та ін. (2004 р.) встановили генетичну стабільність клонів *Acacia mangium* Willd.; T. Lopes та ін. (2006 р.) довели, що тільки у 2,5 % клонів *Quercus suber* L. (в одному варіанті досліду) було відзначено мутації, що є досить незначною часткою; у 2013 р. S. K. Senapati та ін. за двома методами генетичного аналізу (RAPD та ISSR маркери) встановили 100 %-ву генетичну ідентичність клонів *Celastrus paniculatus* Willd.; A. Ilczuk та E. Jacygrad (2016 р.) експериментальним способом (маркери RAPD та ISSR) довели генетичну ідентичність клонів культуварів *Cornus alba* L. [12].

Потрібно зазначити, що питання перспектив мікроклонування *Thuja occidentalis* L. порушено у незначній кількості наукових праць. Зокрема, результати розмноження в умовах *in vitro* туї західної висвітлено у роботах I. S. Harry та ін. (1987 р.), К. А. Nour та Thorpe T. A. (1993 р.), М. Н. Kabir, Р. К. Roy та G. Ahmed (2006 р.), В. М. Кріт, В. В. Мацкевич (2015) та Н. Б. Кушнір, Д. В. Михайлюк, В. В. Мацкевич (2016) [8, 9].

Проаналізувавши літературні дані можемо стверджувати, що мікроклональне розмноження, зокрема і досліджуваного виду, є дуже актуальним завданням, яке потребує подальшого дослідження.

Матеріали та методи дослідження. Усі досліді з мікроклонального розмноження досліджуваного виду

виконали за загальноприйнятими біотехнологічними методиками та у власній їх модифікації в лабораторії культури тканин кафедри лісових культур і лісової селекції НЛТУ України (упродовж 2010–2017 рр.) [1, 5, 14].

У ролі вихідних експлантів туї західної взяли невеликі сегменти верхівок пагонів (4–6 мм завдовжки). Деконтамінацію рослинного матеріалу виконували за підібраним раніше протоколом хіміотерапії: C_2H_5OH (96 %; 5 с) + H_2O з детергентом (6 год) + H_2O_2 (3 %; 10 хв) + C_2H_5OH (70 %; 5 с) + $AgNO_3$ (0,2 %; 10 хв.) + $HgCl_2$ (1 %; 10 хв.), застосування якого забезпечило вихід $87,67^{+1,00}$ % життєздатних експлантів [8]. Для ініціації росту використали живильне середовище RW, модифіковане 0,3 мг/л (2,4-D)+0,5 мг/л (НОК)+0,2 мг/л (БАП), яке у наших попередніх роботах забезпечувало найвищі показники [10].

Для стимулювання адвентивного ризогенезу отриманих в умовах *in vitro* мікропагонів досліджуваного виду їх пасажували на свіже живильне середовище за прописом RW, оскільки воно проявило себе найбільш оптимальним на попередніх етапах досліджень, із удвічі меншим вмістом усіх мікро- та макроелементів від базового. Усі роботи виконували виключно в асептичних умовах, щоб запобігти інфікуванню рослинного матеріалу. Як стимулятори адвентивного коренеутворення використовували виключно речовини ауксинової природи, а саме НОК (α -нафтилоцтова кислота) та ІМК (β -індолілмасляна кислота) у концентраціях 0,5 та 1,0 мг/л кожен, у всіх можливих комбінаціях.

Для об'єктивного оцінювання якісних показників ризогенезу досліджуваних рослин-регенерантів використали дещо модифіковану шкалу, запропоновану О. В. Колесніченком (2009), яка розроблена для аналізу укорінення стеблових живців [6]:

- 0 балів – укорінення не виявлено (n_0);
- 1 бал – слабе укорінення (корінці поодинокі, нерозгалужені) (n_1);
- 2 бали – середнє укорінення, мікроживець має 2–3 добре розвинені корінці (n_2);
- 3 бали – сильне укорінення, коренева система добре розвинена, розгалужена, більше 3 корінців (n_3).

Після цього (для кількісної та якісної оцінки) виконали розрахунок інтегрованого показника укорінення мікроживців (ІПУ):

$$ІПУ = P \cdot \frac{N_{сер.}}{3}, \quad (1)$$

де: P – частка укорінених мікроживців у певному варіанті досліді, %; $N_{сер.}$ – середній показник укорінення у варіанті досліді, бал.

Частку укорінених мікроживців у варіанті досліді визначали за такою формулою:

$$P = \frac{100}{n} \sum_{i=1}^3 n_i, \quad \%, \quad (2)$$

де: n_1, n_2, n_3 – кількість укорінених мікроживців у i -му варіанті зі ступенем відповідно 1, 2, та 3 бали, шт.; n – загальна кількість мікроживців у певному варіанті досліді, шт.

Середній показник укорінення у варіанті визначали за такою формулою:

$$N_{сер.} = \frac{1}{n} \sum_{i=0}^3 (i+1) \cdot n_i - 1, \quad (3)$$

де n_0 – кількість мікроживців, які не укорінилися, шт.

Встановивши оптимальний варіант досліду, тобто той, який характеризувався найвищим показником відсотка укорінення та інтегрованого показника укорінення, встановили якість укорінення. Для цього визначили такі біометричні показники новоутворених кореневих систем клонів (ризогенезу) та опрацювали їх статистично [3], а саме:

- кількість корінців першого порядку (N , шт.);
- кількість корінців другого порядку (n , шт.);
- сумарну довжину корінців першого порядку (L , мм);
- сумарну довжину корінців другого порядку (l , мм).

Результати дослідження та їх обговорення

Отримані експериментальні дані (рис. 1) дали підстави стверджувати про наявність певних закономір-

ностей процесу ризогенезу в експлантів *Thuja occidentalis*. Так, найвищі показники укорінення зафіксовано за використання у ролі стимулятора коренеутворення тільки речовини ІМК (максимальної експериментованої концентрації 1,0 мг/л). У цьому варіанті досліду було відзначено 90,0 % укорінених мікропагонів із балом укорінення 3, 10,0 % – із балом 2 та жодного, оціненого балом 1. Зниження концентрації цього стимулятора росту спричиняло істотне зниження досліджуваних показників укорінення, а саме: 56,7 % рослин-регенерантів оцінено балом 3 та 23,3 % – балом 2.

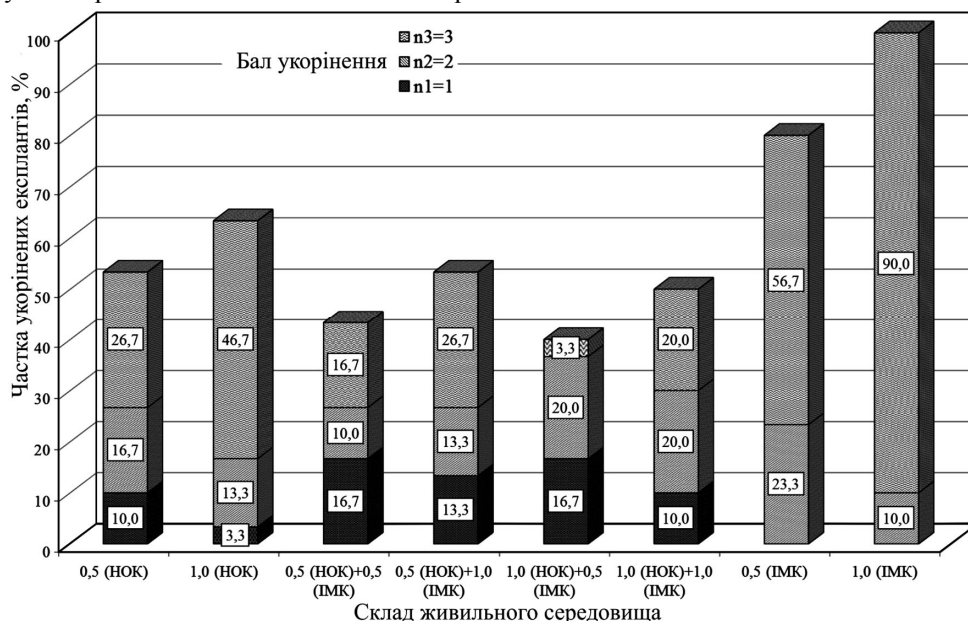


Рис. 1. Розподіл клонів *Thuja occidentalis* L. за ступенем їх укорінення

Застосування одночасного поєднання двох стимуляторів росту забезпечувало значно нижчі результати у всіх варіантах досліджень без винятку, зокрема виявлено 3,3–26,7 % укорінених експлантів з оцінкою 3 бали, 10,0–20,0 % – 2 бали та 10,0–16,7 % – 1 бал, у відповідних варіантах експерименту. Важливим моментом, на нашу думку, є те, що у разі наявності у живильному середовищі більшої частини речовини ІМК відзначено де-що кращі результати порівняно із варіантами, де переважала за вмістом речовина НОК. Також варто зазначити, що у разі додавання до живильного середовища тільки одного із протестованих стимуляторів росту, досліджувані показники ризогенезу були вищими порівняно із дослідженнями, де застосовували два стимулятори, але значно нижчими, ніж за використання тільки ІМК, і становили: 26,7–46,7 % укорінених мікропагонів, які оцінено балом 3, 16,7–13,3 % – балом 2 та 3,3–10,0 % – балом 1, у відповідних варіантах (рис. 2).

Підсумувавши отримані результати досліджень можна стверджувати, що для забезпечення максимальних показників ризогенезу мікроклонів досліджуваного виду необхідно вводити до складу живильного середовища 1/2 RW стимулятора росту ІМК у концентрації 1,0 мг/л.

Проаналізували отримані якісні показники ризогенезу ініційованих експлантів досліджуваного виду, підтверджено висунуте припущення про значний позитивний вплив стимулятора росту ІМК (табл. 1).

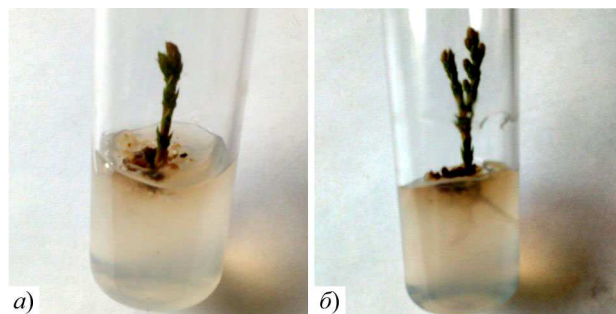


Рис. 2. Мікропагони *Thuja occidentalis* Leningrad: а) ініційований; б) із початком адвентивного ризогенезу

Табл. 1. Якісні показники ризогенезу експлантів *Thuja occidentalis* L.

№ з/п	Комбінація і концентрація стимуляторів, мг/л	P , %	$N_{сер.}$ бал	$ИТУ$, %
1	0,5 (НОК)	53,33	1,23	21,93
2	1,0 (НОК)	63,33	1,70	35,89
3	0,5 (НОК)+0,5 (ІМК)	43,33	0,87	12,52
4	0,5 (НОК)+1,0 (ІМК)	53,33	1,20	21,33
5	1,0 (НОК)+0,5 (ІМК)	40,00	0,67	8,89
6	1,0 (НОК)+1,0 (ІМК)	50,00	1,10	18,33
7	0,5 (ІМК)	80,00	2,17	57,78
8	1,0 (ІМК)	100,00	2,90	96,67

Примітки: P – кількість укорінених клонів; $N_{сер.}$ – середній бал укорінення; $ИТУ$ – інтегрований показник укорінення.

Отримані дані (див. табл. 1) свідчать, що в разі застосування у ролі стимулятора коренеутворення речовини ІМК концентрацією 1,0 мг/л спостерігається ризогенез у всіх без винятку експлантів досліджуваного виду, причому середній бал укорінення становить 2,90, а ПУ – 96,67 %. Інші комбінації та концентрації стимулювальних коренеутворювальних речовин, істотно знижували досліджувані показники. Все наведене дає змогу зробити висновок про доцільність застосування як стимулятора адвентивного ризогенезу для мікропагонів туї західної тільки речовини ІМК у концентрації 1,0 мг/л, що забезпечує досягнення поставленої мети.

Після розподілу мікроклонів *Thuja occidentalis* за показниками укорінення у балах визначено біометричні показники кореневих систем, отриманих у варіанті досліді № 8 (див. табл. 1). Оскільки, на нашу думку, тільки констатації факту утворення адвентивних коренів є недостатньо. Саме тому проаналізовано якість ризогенезу, а саме визначено такі біометричні показники новоутворених кореневих систем: середню кількість корінців першого порядку на один експлант (N , шт.), середню кількість корінців другого порядку на один експлант (n , шт.), середню сумарну довжину корінців першого порядку на один експлант (L , мм) та середню сумарну довжину корінців другого порядку на один експлант (l , мм). Усі заміри виконували з точністю до 1,0 мм (табл. 2).

Табл. 2. Біометричні показники адвентивних кореневих систем клонів *Thuja occidentalis* L. (1/2 RW +1 мг/л ІМК)

№ з/п	Статистичний показник	Біометричний показник ризогенезу			
		N , шт.	n , шт.	L , мм	l , мм
1	X_{\max}	5	5	95	11
2	X_{\min}	7	11	133	22
3	\bar{X}	6,03	7,90	116,13	17,27
4	σ^2	0,51	1,88	126,67	8,61
5	σ	0,71	1,37	11,25	2,93
6	V , %	11,91	17,38	9,69	17,00
7	m	0,13	0,25	2,05	0,53
8	p	2,18	3,17	1,77	3,10

Примітки: N – кількість корінців першого порядку на один експлант; n – кількість корінців другого порядку на один експлант; L – сумарна довжина корінців першого порядку; l – сумарна довжина корінців другого порядку.

На підставі статистичного опрацювання отриманих даних біометричних показників адвентивних кореневих систем клонів туї західної, отриманих в умовах *in vitro* можна стверджувати про формування 6,03^{±0,13} шт. на експлант із середньою довжиною 116,13^{±2,05} мм (коефіцієнт варіації – 11,91 та 9,69 % відповідно) корінців першого порядку. Проте, потрібно зазначити, що корінці другого порядку формувались не так активно – тільки 7,9^{±0,25} шт. на експлант із сумарною середньою довжиною в межах 17,27^{±0,53} мм при варіації 17,38 та 17,0 % для відповідних біометричних показників та показнику точності досліді у межах 2,18-3,17 %.

Потрібно зазначити, що в експериментах, проведених М. Н. Kabir, Р. К. Roy та Golam Ahmed (2006), де для укорінення також застосовували середовище 1/2 MS, яке модифікували речовинами ІВА, ІАА та NAA, середня кількість коренів на один клон становила 3,92^{±0,28}, а середня їх довжина – 3,64^{±0,38} см [4], що є значно менше порівняно із нашими результатами.

Висновки

Проведені дослідження та статистичне опрацювання їх результатів дають змогу зробити висновок про значний вплив як вмісту, так і концентрації стимуляторів ауксинового типу на процеси перебігу адвентивного ризогенезу ініційованих експлантів *Thuja occidentalis* під час мікроклонального розмноження. Експериментально встановлено, що оптимальним живильним середовищем для ризогенезу клонів досліджуваного виду є 1/2 RW із додаванням ІМК у концентрації 1,0 мг/л, яке забезпечило 100 % укорінення (90,0 % із балом укорінення 3 та 10,0 % – із балом 2) та утворення 6,03^{±0,13} шт. корінців першого та 7,9^{±0,25} шт. другого порядку на один експлант із середньою довжиною 116,13^{±2,05} мм та 17,27^{±0,53} мм відповідно.

References

1. Biotechnologiya roslyn. Retrieved from: <http://veterinar-ua.ru/lektzii/2461-biotechnologiya-roslyn.html>. [In Ukrainian].
2. Butenko, R. G. (1986). *Kultura kletok rastenii i biotekhnologiya*. Moscow: Nauka, 285 p. [In Russian].
3. Grechanik, R. M., Guz, M. M., & Oleksiichenko, N. O. (2012). Osoblivosti rizogenezu *in vitro* i adaptatsii *ex vitro* regenerativ shovkovitci biloi (*Morus alba* L.). *Scientific Bulletin of UkrSFU*, 22(2), 9–15. [In Russian].
4. Kabir, M. H., Roy, P. K., & Golam, Ahmed. (2006). In vitro Propagation of *Thuja occidentalis*. *Through Apical Shoot Culture Plant Tissue Cult., & Biotech*, 16(1), 5–9.
5. Kataeva, N. V., & Butenko, R. G. (1983). *Klonalnoe mikro-razmnozhennye rastenii*. Moscow: Nauka, 96 p. [In Russian].
6. Kolesnichenko, O. V., Sliusar, S. I., & Yakobchuk, O. M. (2009). Metodichni rekomendatsii z rozmnozhenia derevnykh dekorativnykh roslyn Botanichnoho sadu NUBiP Ukrainy. Kyiv: NU-BiP Ukrainy, 29 p. [In Ukrainian].
7. Lisovyi, M. M. (2015). Osoblyvosti avtovegetativnoho rozmnozhenia dekorativnykh form *Thuja occidentalis* L. *Scientific Bulletin of UNFU*, 25(9), 57–63. [In Ukrainian].
8. Lisovyi, M. M. (2017). Osoblyvosti otrymannia aseptychnoi kultury *Thuja occidentalis* L. v umovakh *in vitro*. *Scientific Bulletin of UNFU*, 27(9), 27–29. <https://doi.org/10.15421/40270905>
9. Lisovyi, M. M. (2019). Vplyv stymulatoriv rostu na iniatsiituu eksplantiv *Thuja occidentalis* L. v umovakh *in vitro*. *Scientific Bulletin of UNFU*, 29(5), 47–50. <https://doi.org/10.15421/40290509>
10. Lisovyi, M. M. (2020). Stanovlennia kultury tkanyn, yak perspektivnoho napriamku doslidzhen. Materialy 70-oi naukovo-tekhnicnoi konferentsii profesorsko vykladatskoho skladu, naukovykh pratsivnykiv, doktorantiv ta aspirantiv za pidsumkamy naukovo diialnosti u 2019-2020. (pp. 52–54). Lviv. [In Ukrainian].
11. Lisovyi, M. M., & Huz, M. M. (2015). Polimorfizm ta osoblyvosti vegetativnoho rozmnozhenia zhyvtsiuvanniam dekorativnykh form *Thuja occidentalis* L. *Forestry and agroforestry*. Issue 126, 132–139. [In Ukrainian].
12. Lisovyi, M. M., Ivaniuk, A. P., & Kharachko, T. I. (2019). Hetychna stabilnist kloniv pry rozmnozheni v umovakh *in vitro*. *Materialy 69-oi naukovo-tekhnicnoi konferentsii profesorsko-vykladatskoho skladu, naukovykh pratsivnykiv, doktorantiv ta aspirantiv za pidsumkamy naukovo diialnosti u 2018.*, (pp. 52–55) Lviv. [In Ukrainian].
13. Musiienko, M. M., & Paniuta, O. O. (2005). *Biotechnologiya roslyn*. Kyiv: VPTs "Kyivskiy universytet", 114 p. [In Ukrainian].
14. Plant Cell Biotechnology. Retrieved from: <https://books.google.com.ua/books?>

INFLUENCE OF GROWTH STIMULATORS ON RISOGENESIS OF *THUJA OCCIDENTALIS* L. CLONES IN VITRO CONDITIONS

Literature review of data on the key issues of the research enabled revealing that *Thuja occidentalis* L. is characterized by significant genetic polymorphism, which makes it an extremely valuable species for garden compositions for various purposes, and accordingly necessitates the improvement of modern methods of reproduction, in vitro reproduction in particular. The nutrient medium according to the RW prescription is used for the rhizogenesis of microshoots of the studied species, as it proved to be the best in the previous stages of research. Only substances of auxin nature were used as stimulators of adventitious rooting, namely NAA and IBA in concentrations of 0.5 and 1.0 mg/l each, in all possible combinations. To assess the indicators of rhizogenesis we used the following relative modified scale in points: 0 points – rooting is not observed; 1 point – weak rooting (single roots, unbranched); 2 points – average rooting (microfilament has 2-3 developed roots); 3 points – strong rooting (root system is well developed, branched, more than 3 roots). For quantitative and qualitative assessment, we calculated the integrated indicator of rooting of micro-cuttings (IIR) taking into account the share of rooted micro-cuttings and the average rooting index in points. The results of our research have shown that the highest indicators of rhizogenesis (90.0 % of rooted micro-shoots with a score ranging from 3 to 10.0 % – with a score of 2 and none with a score of 1) were observed with the use of IBA rooting stimulant at a concentration of 1.0 mg/l. We have also found that the decrease in the concentration of IBA and the use of two stimulants simultaneously or only NAA caused a decrease in the studied rooting rates. In addition, in this version of the experiment rhizogenesis in all without exception explants of the studied species is recorded, with an average rooting score of 2.90, and IIR – 96.67 %. We should also note that the nutrient medium 1/2 RW with the addition of 1 mg / l IBA provided the largest number and average length of newly formed adventitious roots of the first and second order per explant. As a result, experimental studies and statistical processing of the obtained data allowed us to conclude that both the content and concentration of auxin-type stimulants have a significant effect on the processes of adventitious rhizogenesis of initiated *Thuja occidentalis* explants during microclonal propagation. The optimal nutrient medium for the rhizogenesis of clones of the studied species is found to be 1/2 MS with the addition of IBA at a concentration of 1.0 mg/l, which provided 100 % rooting and the formation of $6.03^{±0.13}$ pcs. roots of the first and $7.9^{±0.25}$ pcs. second order per explant with an average length of $116.13^{±2.05}$ mm and $17.27^{±0.53}$ mm, respectively.

Keywords: *Thuja occidentalis* L.; rhizogenesis; nutrient medium; in vitro; microclonal propagation.